

Abstract

Integrative taxonomy and DNA barcoding of Austrian turbellarians

Matthäus Greilhuber, Bernhard Egger, Isabel Dittmann,
Pedro R. Frade, Elisabeth Haring

Freshwater biodiversity is declining at an even faster rate than biodiversity in the terrestrial and marine realms, and closing knowledge gaps on neglected taxa is seen as one of the priorities in freshwater biodiversity research (Maasri et al. 2022, WWF 2022). The study presented contributed to closing such a knowledge gap by generating DNA barcodes of turbellarians (Platyhelminthes excluding the parasitic Neodermata), a poorly studied group among freshwater invertebrates (Schockaert et al. 2008). To this end, partial sequences of the nuclear 18S and 28S rRNA genes of freshwater turbellarian specimens collected in eastern Austria were generated. Specimens were investigated alive using stereo and compound microscopes, and morphological features were photographed or drawn to allow for subsequent determination. Some specimens were then fixed in 96% ethanol for DNA analysis, and some in Bouin's fluid for histological serial sections and genital reconstructions. Amplification of both marker genes was predominantly successful, and a single primer pair per marker gene was applicable across all the orders of turbellarians collected (Catenulida, Macrostomorpha, Prorhynchida, Rhabdocoela, Tricladida, and Bothrioplanida). The resulting sequences were analyzed phylogenetically and compared with published sequences from the GenBank database. If the morphology-based identification of the species was ambiguous, it was retained at the lowest level that could be determined with certainty (e.g., the genus). Forty-two taxa (most determined to genus or species level) were recorded. The comparison with reference sequences often confirmed the prior identifications, but reference sequences were not always available. The new records of turbellarian taxa and their DNA barcodes improve the state of knowledge of this essential component of freshwater ecosystems.

Greilhuber M, Egger B, Dittmann I, Frade P R, Haring E (2024) Integrative Taxonomie und DNA-Barcoding österreichischer Turbellarien.

Die Biodiversität in Süßwasser nimmt in einem noch schnelleren Tempo ab als die Biodiversität in terrestrischen und marinen Lebensräumen. Die Schließung von Wissenslücken bei vernachlässigten Taxa wird als eine der Prioritäten bei der Erforschung der Süßwasserbiodiversität angesehen (Maasri et al. 2022, WWF 2022). Die präsentierte Studie trug dazu bei, eine solche Wissenslücke zu schließen, indem DNA-Barcodes von Turbellarien (Platyhelminthes exklusive Neodermata), einer wenig erforschten Gruppe unter den Süßwasserevertebraten, generiert wurden (Schockaert et al. 2008). Hierzu wurden Teilsequenzen der nukleären 18S- und 28S-rRNA-Gene von Süßwasserturbellarien aus Ostösterreich generiert. Die Tiere wurden lebend mikroskopiert. Morphologische Merkmale wurden fotografiert oder gezeichnet, um eine spätere Bestimmung zu ermöglichen. Einige Exemplare wurden dann in 96%igem Ethanol für die DNA-Analyse fixiert, die übrigen in Bouin-Lösung für histologische Serienschritte und Genitalrekonstruktionen. Die Amplifikation beider Marker-Gene war überwiegend erfolgreich, und jeweils ein Primer-Paar pro Marker-Gen war bei allen vorgefundenen Turbellarien-Ordnungen anwendbar (Catenulida, Macrostomorpha, Prorhynchida, Rhabdocoela, Tricladida und Bothrioplanida). Die resultierenden Sequenzen wurden phylogenetisch analysiert und mit veröffentlichten Sequenzen aus der Datenbank GenBank verglichen. Wenn die morphologische Bestimmung auf die Art nicht möglich war, wurde die Bestimmung auf der niedrigsten Ebene belassen, die mit Sicherheit bestimmt werden konnte (z. B. der Gattung). Zweiundvierzig Taxa (meist auf Gattungs- oder Artenebene bestimmt) wurden erfasst. Der Vergleich mit Referenzsequenzen be-

stätigte oft die Bestimmungen, aber Referenzsequenzen waren nicht immer verfügbar. Die neuen Nachweise von Turbellarien-Taxa und ihre DNA-Barcodes verbessern den Kenntnisstand über dieses wesentliche Element von Süßwasserökosystemen.

Keywords: turbellaria, DNA barcodes, morphology, Austria.

Literature

- Maasri A, Jähmig S C, Adamescu M C (2022) A global agenda for advancing freshwater biodiversity research. *Ecology Letters* 25, 255–263. <https://doi.org/10.1111/ele.13931>
- WWF (2022) Living Planet Report 2022 – Building a Nature-positive Society. Almond, R.E.A., Grooten, M., Juffe Bignoli, D. & Petersen, T. (Eds). WWF, Gland
- Schockaert E R, Hooge M, Sluys R, Schilling S, Tyler S, Artois T (2008) Global diversity of free-living flatworms (Platyhelminthes, “Turbellaria”) in freshwater. *Hydrobiologia* 595, 41–48. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9002-8>

Received: 2024 03 01

Addresses:

Matthäus Greilhuber, E-Mail: matthaeus.greilhuber@nhm-wien.ac.at
Natural History Museum Vienna, Central Research Laboratories and Third Zoological Department, Burgring 7, A-1010 Vienna, Austria.

Bernhard Egger, E-Mail: bernhard.egger@uibk.ac.at
Isabel Dittmann, E-Mail: isabel.dittmann@uibk.ac.at
University of Innsbruck, Department of Zoology, Technikerstr. 25, A-6020 Innsbruck, Austria.

Pedro R. Frade, E-Mail: pedro.frade@nhm-wien.ac.at
Natural History Museum Vienna, Third Zoological Department, Burgring 7, A-1010 Vienna, Austria.

Elisabeth Haring, E-Mail: elisabeth.haring@nhm-wien.ac.at
Natural History Museum Vienna, Central Research Laboratories, Burgring 7, A-1010 Vienna, Austria; University of Vienna, Department of Evolutionary Biology, Djerassiplatz 1, A-1030 Vienna, Austria.